UNERWÜNSCHTE NEBENWIRKUNGEN DES SEKRETOLYTIKUM ACETYLCYSTEIN BEIM MENSCHLICHEN ASTHMA BRONCHIALE

in vitro- und in vivo-Studien

EMMA AUCH

1986

Aus der Kinderpoliklinik
der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. med. H. Spieß

UNERWÜNSCHTE NEBENWIRKUNGEN DES SEKRETOLYTIKUM ACETYLCYSTEIN BEIM MENSCHLICHEN ASTHMA BRONCHIALE

in vitro- und in vivo-Studien

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig - Maximilians - Universität zu München

vorgelegt von
Emma Auch
aus
München
1986

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät

der Universität München

Berichterstatter :	Priv.-Doz. Dr. W. Dorsch
Mitberichterstatter :	Prof. Dr. H. Spieß Prof. Dr. G. Fruhmann
Dekan :	Prof. Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung :	24.02.1987

Meiner Tochter Sophia,
deren Vater
und meinen Eltern
in Liebe gewidmet.

Inhalt

1. Einleitung

1.1. Vorstellung der Substanz Acetylcystein
1.2. Vorstudien
1.3. Allergentachyphylaxie
1.4. Pathophysiologische Grundlagen der Allergentachyphylaxie
1.4.1. Prostaglandin E
1.4.2. Histamin
1.5. Gegenstand der vorgelegten Arbeit
1.5.1. in vitro
1.5.1.1. Histaminfreisetzung aus peripheren Granulocyten
1.5.1.2. Prostaglandin E-Biosynthese von Fibroblasten
1.5.2. in vivo: bronchiale Reaktion des Menschen

2. Material und Methoden

2.1 in vitro

2.1.1. Histaminfreisetzung des peripheren Granulocyten
2.1.1.1. Allgemeine Methodik
2.1.1.2. Präinkubation mit Acetylcystein
2.1.1.3. Präinkubation mit äquimolaren TCM-Pufferlösungen
2.1.1.4. Einfluß des pH-Wertes
2.1.2. Prostaglandin E -Biosynthese des Fibroblasten
2.1.2.1. Zellkultur
2.1.2.2. Stimulation der Zellen
2.1.2.3. Inkubation mit Acetylcystein
2.1.2.4. Prostaglandin E -Extraktion und RIA

2.2. Untersuchungen in vivo

2.2.1. Auswahl der Patienten/ Ein-und Ausschlußkriterien
2.2.2. Lungenfunktionsmessung
2.2.3. Allergenapplikation/ Inhalation von Acetylcystein
2.2.4. Prüfung der Allergentachyphylaxie
2.2.5. Einfluß von Acetylcystein auf die Allergentachyphylaxie

2.3 Statistik

3. Ergebnisse

3.1. Untersuchungen in vitro

3.1.1. Histaminfreisetzung aus peripheren Granulocyten/ Einfluß von Acetylcystein
3.1.1.1. Spontaner Histaminrelease -Calciumionophor Anti-IgE induziert
3.1.1.2. Einfluß von Acetylcystein auf die Histaminfreisetzung
3.1.1.3. Einfluß von äquimolaren TCM-Puffer-Lösungen
3.1.1.4. Einfluß des pH-Wertes
3.1.2. Prostaglandin E-Biosynthese menschlicher Lungenfibroblasten
3.1.2.2. Prostaglandin -Extraktion und Radio-Immuno-Assay
3.1.2.3. Einfluß von Acetylcystein auf die Prostaglandin E-Biosynthese

3.2. Untersuchungen in vivo

3.2.1. Auswahl der Patienten
3.2.2. Lungenfunktionsmessungen
3.2.3. Allergenapplikation/Inhalation von Acetylcystein
3.2.4. Allergentachyphylaxie
3.2.5. Einfluß von Acetylcystein auf die asthmatische Reaktion nach sequentieller Allergenapplikation

4. Diskussion

5. Zusammenfassung

6. Literaturverzeichnis

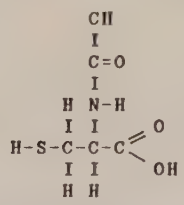
7. Danksagung

8. Lebenslauf

1. Einleitung

1.1. Vorstellung der Substanz Acetylcystein

Acetylcystein ist ein bekanntes, häufig bei Asthmakranken angewendetes Sekretolytikum.
In Deutschland ist es unter dem Namen "Mucolytikum Lappe®" oder "Fluimucil®" im Handel.
Acetylcystein bricht Disulfid-Bindungen von Mukoproteiden auf und verringert dadurch ihre Viskosität (14).



Wie aus der Strukturformel ersichtlich, handelt es sich um ein Thiol.

1.2. Vorstudien

Einige Thiole, wie Kupfer-Dithiotreitol und Dimercaptopropanol (11), haben die Eigenschaft, die Prostaglandin E-Synthese (36) und damit auch die Allergentachyphylaxie zu behindern (9,11).

Wie beim Meerschweinchen gezeigt werden konnte, besitzt Acetylcystein zwei unerwünschte Nebenwirkungen auf das allergische Bronchialasthma (35)

a) die Dauer einer einzelnen bronchialen Reaktion auf die Inhalation eines Allergens wird verlängert.
b) die Allergentachyphylaxie (s.u.) wird behindert.

1.3. Allergentachyphylaxie

Tachyphylaxie besagt in der Pharmakologie, daß die Wirkung eines Pharmakons bei mehrfacher Applikation in kurzen Zeitabständen abnimmt.

Allergentachyphylaxie wird als zunehmende Verringerung der Reaktionsbereitschaft des Organismus bei wiederholter Allergengabe verstanden (9).

Die Bedeutung eines derartigen Anpassungsmechanismus liegt auf der Hand: Er ermöglicht Asthmakranken den Aufenthalt in einer Allergenverseuchten Umgebung und schützt sie vor überschießenden Reaktionen.

1.4. Pathophysiologische Grundlagen

Es ist eine gängige klinische Erfahrung, daß nach einer starken allergischen Reaktion das auslösende Allergen häufig gut toleriert wird. Dies wurde dadurch erklärt, daß die erste allergische Reaktion alle (oder fast alle) Entzündungsstoffe verbraucht habe,sodaß für die nachfolgenden Reaktionen nicht genügend Entzündungsstoffe zur Verfügung stünden. Dieses Konzept ist sicher zu einfach.

An Entstehung und Steuerung von Entzündungsvorgängen und allergischen Reaktionen ist eine Vielzahl von Entzündungsmediatoren beteiligt. Deren Interaktion, Syntheserate, Abbaugeschwindigkeit, etc. spielen eine Rolle.
Ein gültiges kybernetisches Modell existiert noch nicht.

Dem Arachidonsäure-Metaboliten Prostaglandin E scheint eine bedeutende Funktion zuzukommen. Er wird als Sekundärmediator bezeichnet .

Primär heißen Mediatoren, die von der Mastzelle als der primären Effektorzelle der allergischen Reaktion produziert und freigesetzt werden, wie z.B. Histamin (27).

Sekundär heißen Mediatoren, die durch die Einwirkung primärer Mediatoren auf sekundäre Effektorzellen (z.B. Fibroblasten und Zellen der Bronchialmuskulatur) freigesetzt werden,wie Prostaglandine, für uns besonders wichtig Prostaglandin E.

Beim Meerschweinchen führt die wiederholte Allergeninhalation zur Allergentachyphylaxie (9). Die Übertragung des Tiermodells auf die Pathophysiologie des Menschen stößt auf Schwierigkeiten, denn nach der inhalativen Provokation mit Allergenen beobachtet man hier zwei Reaktionsformen:
die Sofortreaktion und die verzögerte Reaktion(Abb 1)

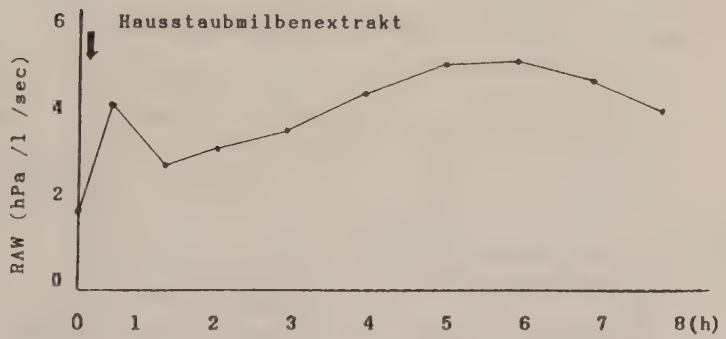


Abb.1: Verlauf der Sofortreaktion und der verzögerten Reaktion

Bei der Sofortreaktion ist die Pathogenese weitgehend geklärt.

Bei der verzögerten Reaktion handelt es sich um eine allergenunspezifische Entzündungsreaktion, die durch die Sofortreaktion ausgelöst wird (12). Sie kann unterschiedlichste Ausmaße annehmen. Die an der verzögerten Reaktion beteiligten Entzündungsmediatoren verursachen eine bronchiale Hyperreagibilität (25). Dies verbietet die wiederholte Allergenapplikation bei Patienten mit verzögerten bronchialen Reaktionen. Es liegt außerdem auf der Hand, daß kurzfristig wirksam werdende Regulationsmechanismen wie die Allergentachyphylaxie, die sich innerhalb Minuten bzw. Stunden abspielen, bei Patienten mit verzögerten Reaktionen überlagert werden und sich deshalb schwer nachweisen lassen.

1.4.1. Prostaglandin E

Prostaglandin E wird aus der Arachidonsäure gebildet.Zwei Enzyme sind daran beteiligt:

die Cyclooxygenase und die Prostaglandin E-Isomerase.

Nicht jeder Zelltyp verfügt über die gleiche Enzymausstattung, so synthetisieren Mastzellen und basophile Granulocyten nur sehr geringe Mengen an Prostaglandin E, Fibroblasten und Zellen der glatten Bronchialmuskulatur wesentlich mehr.

Die Arachidonsäure, das Substrat der beiden PgE-bildenden Enzyme wird durch die Phopholipase A aus Phospholipiden der Zellmembran abgespalten,sobald die Zelle spezifisch aktiviert wird.
Prostaglandin E spielt zusammen mit anderen Metaboliten ($PgF_{2\alpha}$,PgD_2 ,Thromboxane, Leukotriene, PAF = Plättchen aktivierender Faktor, Kinine) eine Rolle in der Regulation des Bronchialtonus (14, 27).

Prostaglandin E wirkt direkt bronchodilatatierend (6), fördert die c-AMP-Bildung verschiedener Zelltypen und hemmt die Histaminausschüttung (42).

Wahrscheinlich ist es der bedeutendste Vermittler der Allergentachyphylaxie (9, 11).

1979 beschrieb Anderson (4) in vitro die Histamin-tachyphylaxie in der isolierten Hundetrachea (4).
Er konnte zeigen, daß diese durch Prostaglandin-syntheseinhibitoren wie z.B. Indometacin aufgehoben und durch Prostaglandin E (aber nicht durch PgB_2 , PgD_2, und PgF_2) wieder hergestellt werden konnte (s.a.Diskussion).

1.4.2. Histamin

Histamin ist ein polyvalenter Mediator (37,38).
Im Zusammenhang mit der Allergentachyphylaxie ist ein Feedbackmechanismus besonders wichtig:
In Anwesenheit von Histamin wird über die Wirkung auf den H_2 -Rezeptor die Freisetzung von Histamin aus Mastzellen und peripheren Granulocyten inhibiert (24).
Durch die Wirkung auf den H_1 -Rezeptor wird vom Lungengewebe bzw.-zellen vermehrt Prostaglandin E gebildet (42).

1.5. Gegenstand der vorgelegten Arbeit

Die Meerschweinchenversuche werfen die Frage auf, ob ähnliche Nebenwirkungen nicht auch beim Asthma bronchiale des Menschen zu beobachten wären.Dies hätte erhebliche klinische Konsequenzen.
Drei Systeme wurden überprüft:

1.5.1. in vitro

1.5.1.1. Die Freisetzung von Histamin
als primären Mediator der Anaphylaxie aus peripheren, basophilen Granulocyten ohne und mit Zusatz von Acetylcystein

1.5.1.2. Die Prostaglandin E-Biosynthese aus menschlichen Lungenfibroblasten ohne und mit Zusatz von Acetylcystein.

1.5.2. in vivo
Beobachtungen des Verlaufs und des Ausmaßes der bronchialen Reaktion von Asthmapatienten auf die Inhalation eines Antigens ohne und mit Zusatz von Acetylcystein.

Bei allen Versuchen (in vitro, in vivo) soll Acetylcystein in therapeutischen Dosen verabreicht werden.

2. Material und Methoden

2.1. in vitro-Studien

2.1.1. Histaminfreisetzung aus peripheren Granulocyten

2.1.1.1. Allgemeine Methodik

Patienten;Es handelte sich um lo männliche Patienten, die zwischen 18 und 35 Jahren alt waren und alle an einer Krankheit aus dem atopischen Formenkreis litten.

Isolation:Wir nahmen lo Probanden 25 ml venöses Blut mit einer heparinisierten Spritze aus der Cubitalvene ab. Die Probanden waren ohne medikamentöse Therapie seit mindestens einer Woche . Nach Zugabe von 5 ml Dextran 6o (6%) sedimentierten die Blutbestandteile 6o min bei Raumtemperatur. Die Leukocyten wurden zweimal in TCM(Tris-Calcium-Magnesium)-Puffer gewaschen. Danach stellten wir mit TCM-Puffer eine Suspension her, die $5xlo^6$ Zellen/ml enthielt.

Stimulation: 9ooμl der Leukocytensuspension wurden lo Minuten bei 37° C mit Acetylcystein oder Kontrollösung (s.u.) inkubiert, anschließend kurz aufgeschüttelt und mit je 16.7 I.E. Anti IgE stimuliert. Hierbei handelt es sich um von Kaninchen gebildete gegen Fc-Fragmente menschlicher Immunglobulin E-Moleküle gerichtete Antikörper (Firma Behringwerke, Marburg). Sie induzieren eine der allergischen Reaktion ähnliche Stimulation der basophilen Granulocyten (Reverse Anaphylaxie, 37).

Als unspezifisches Stimulans benutzten wir auch das Calcium Ionophor A 23187 der Fa. Sigma in einer Konzentration von 1.7 μg/ml.

Zur Ermittlung des Leerwertes (=spontaner Histamine- Release) wurde an Stelle der anti-IgE-Lösung loo ul TCM-Puffer (pH 7,4, 37°C) zugegeben. Die Reaktion wurde nach lo min. durch Abkühlen im Eisbad gestoppt.

Den Gesamtgehalt der Zelle ermittelten wir durch Zerstörung der Zellen mittels loo μl Perchlorsäure 7o%.
Nach der Abkühlung im Eisfach wurden die Röhrchen zentrifugiert (7oo g, 4o° C, 15 min.).
5oo μl des zellfreien Überstandes wurden vorsichtig abpipettiert, mit 1.5 ml Perchlorsäure 2% versehen und bis zur Histaminbestimmung bei minus 18° C eingefroren.

Histaminbestimmung nach der Methodik von Shore (4o): Wir koppelten das Histamin an o-Phtalaldehyd (OPT) aktivierten es bei 35o nm und maßen die Fluoreszenz bei 45o nm.Die Messung wurde in einem Autoanalyzer (Firma Technicon, Bad Vilbel) im allergologischen Labor der Dermatologischen Klinik der LMU München durchgeführt (4o).Die Meßergebnisse werden als prozentuale Histaminfreisetzung angegeben, wobei der Wert der spontanen Histaminfreisetzung abgezogen wird.

2.1.1.2. Präinkubation mit Acetylcystein

lo min. vor der Stimulation inkubierten wir die Leukozytensuspension mit drei verschiedenen Acetylcysteinkonzentrationen

(o.ol6%, o.16%, 1.6% in TCM-Puffer).

Nicht stimulierte, d.h. weder mit Anti-JgE, noch mit Calcium Ionophor versetzte Zellen wurden mit den gleichen Acetylcystein-Lösungen angesetzt.

2.1.1.3. Präinkubation mit äquiosmolaren Lösungen

Wir überprüften die Osmolarität der drei verschiedenen Acetylcysteinlösungen. Dann bereiteten wir TCM-Puffer mit der gleichen Osmolarität zu, indem wir den Kochsalzanteil veränderten.

Mit diesen Lösungen inkubierten wir anstelle von Acetylcystein die Leukocytensuspension und gingen weiter wie oben beschrieben vor.

2.1.1.4. Einfluß des pH-Wert

Der pH-Wert wurde mit Lackmuspapier in den verschieden konzentrierten Acetylcystein-TCM-Lösungen bestimmt.

2.1.2. Prostaglandin E-Biosynthese von menschlichen Lungenfibroblasten

2.1.2.1. Zellkultur

Wir erhielten menschliche Fibroblasten in der 24. Passage in Kulturflaschen eingefroren bei -18°C (WI 38 Zellen, Flow Laboratories, Meckenheim, BRD) in

Earl MEM (minimal essential medium)
mit 1% NEAA (non essential amino acid)
und 10% FB (Fetales Bovine Serum hitzeinaktiviert).

Wir stellten sie auf folgendes Medium um:

Pro 1000 ml Dulbeccos DMEM gaben wir (Dulbeccos minimal essential medium)
200 mU L-Glutamin,
1.33 g Streptomycin,
0.637 g Penicillin,
0.5 g Ascorbat med. und
100 ml FKS (Fetales Kälberserum) 10%.

Die Zellen wurden jeden 2. bis 3. Tag mit dem angegebenem Medium gefüttert und bei 37° C in einer feuchten CO_2 -Atmosphäre 5% bebrütet, bis sich ein Monolayer entwickelt hatte .

2.1.2.2. Stimulation der Zellen

Unsere Experimente führten wir zwischen der 24. und der 27. Passage durch.
Wir wuschen die Zellen zweimal mit DMEM und stimulierten sie dann nach der Methode von Feinmark (13) 10 Minuten lang bei 37° C mit

Calcium Ionophor 5,2 µg/l
(A23187, Sigma, St. Louis, Ma USA)
und Arachidonsäure 0.1 µM
(AA, Sigma, St. Louis, Ma USA)

2.1.2.3. Inkubation mit Acetylcystein

Acetylcystein (Fluimucil®) wurde gleichzeitig mit Arachidonsäure und Calcium Ionophor in folgenden Endkonzentrationen dem Medium zugesetzt:

o.2%, o.6%, 2% und 6% (v/v).

Hierbei wurde berücksichtigt,daß die Stammlösung (Fluimucil) Acetylcystein in einer 2o% Lösung (=2g Acetylcystein /lo ml) in aqua dest. enthält.

Jeweils zwei Proben wurden gleich behandelt (Doppelexperiment). Die Inkubation dauerte 15 Minuten bei 37° C.

2.1.2.4. Prostaglandin E -Extraktion und Radio-Immuno-Assay

Wir nahmen den Überstand von den Zellen ab und zentrifugierten die Zellen lo min bei 3ooo cpm in der Eppendorfzentrifuge. lml des Überstandes säuerten wir mit loµl Ameisensäure 5% an und extrahierten mit Hilfe einer Kieselgelsäule (Unisil) spezifisch Prostaglandin E. Der Grund dafür ist, daß der Prostaglandin E-Antikörper zu unspezifisch ist und auch mit Thromboxanen und PgF kreuzreagiert.

Bei der Kieselgelsäulenextraktion muß mit Verlusten bis zu 45% gerechnet werden.Die Höhe des Verlustes kalkulierten wir durch die Bestimmung der sog. "recovery":

Tritium-markiertes Prostaglandin E wurde vor der Extraktion den Proben zugesetzt und anschließend die Radioaktivität in jeder einzelnen Probe ermittelt. Der Prostaglandin E-Gehalt jeder Probe wurde dann mittels der Wiederfindequote (recovery rate) korrigiert.

Von jeder Probe machten wir drei RIAs.

2.2. Untersuchungen in vivo

2.2.1. Auswahl der Patienten / Ein- und Ausschlußkriterien

Das Alter der Patienten bewegte sich zwischen 12 und 16 Jahren.

Wie in 1.4. aufgezeigt, ist es nötig, Patienten mit einer verzögerten Reaktion auszuschließen.

Deshalb wurden nur 6 Kinder mit isolierten Sofortreaktionen nach einer klinisch indizierten inhalativen Allergenprovokation in die Studie aufgenommen.

Davon waren fünf männlichen und eines weiblichen Geschlechts.

Patienten, die innerhalb vier Wochen vor Beginn antiasthmatische und auch sonstige Medikamente, insbesondere Aspirin, eingenommen hatten, wurden ausgeschlossen.

Eine gleichzeitige Allergenbelastung wurde dadurch vermieden, daß bei Pollenallergikern die Untersuchungen in der pollenflugfreien Zeit, bei Milbenallergikern nach einer Sanierung des häuslichen Milieus erfolgten.

Die Mitwirkung erfolgte auf freiwilliger Basis nach ausführlicher Aufklärung von Eltern und Kindern über den Zweck der Studie, über mögliche Gefahren und über das Versuchsprotokoll. Es wurde den Kindern freigestellt, jederzeit die Teilnahme an der Studie abzubrechen

2.2.2. Lungenfunktionsmessungen

Als Meßgerät benutzten wir einen volumenkonstanten Bodyplethysmographen (Fenyves & Gut, Basel). Atemwegswiderstand (RAW) und Thorakales Gasvolumen (TGV) wurden nach der von Matthys angegebenen Methodik ermittelt (17).

Die Varianz von RAW und Thorakalen Gasvolumen wurde dadurch überprüft, daß vor Allergeninhalation in zweiminütigen Abstand die Messung zehnmal wiederholt wurde.

2.2.3. Allergenapplikation/Inhalation von Acetylcystein

Allergenfertiglösungen der Firma Bencard (die Konzentration der verschiedenen Pollenlösungen lag bei 6%, die der Hausstaubmilbenlösung bei 1,2% GEM) wurden jeweils frisch mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt.

Die Kinder inhalierten im Seitschlußverfahren (s. Abb.2).
Ein De Vilbiss Ultraschallvernebler (Modell 38B) zerstäubt 3 ml Flüssigkeit in der Minute. Das Aerosol wird mit einer Flußgeschwindigkeit von 3o l/min in ein Inhalationsgerät (Inhalt 3 Liter) transportiert. Von dort gelangt es mit der gleichen Flußgeschwindigkeit über eine Narkoseabsaugung ins Freie. Aus dem Inhalationsgefäß inhaliert der Proband jeweils 3 oder lo Atemzüge eines Allergenaerosols unterschiedlicher Konzentration bei einer Atemfrequenz von 15/min.

Acetylcystein wurde als Fertiglösung verabreicht: vor jeder Allergenapplikation inhalierten die Kinder ca. lml Mucolyticum "Lappe®"; d.i. 2oomg Acetylcystein in aqua ad injectabilia (der Hersteller empfiehlt als "mittlere Dosis" 3-4 mal täglich 2-5ml).

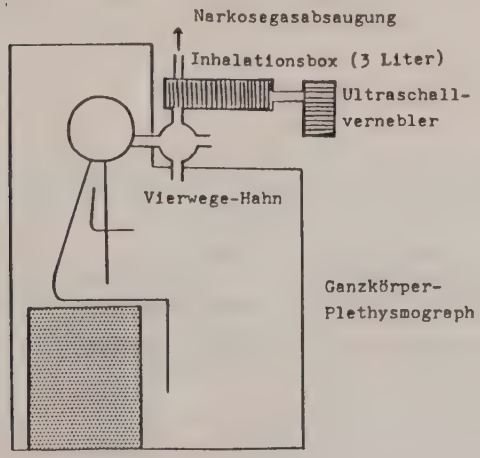


Abb.2: Prinzip des Seitschlußverfahren

2.2.4. Prüfung der Allergentachyphylaxie

Die Untersuchungen wurden immer am Vormittag durchgeführt

Zunächst wurden Ausgangswerte für Atemwegswiderstand (RAW) und Thorakales Gasvolumen (TGV) ermittelt.

Daraufhin inhalierten die Kinder 1o Atemzüge einer Kontrollösung, um eine unspezifische Reaktion auf den in der Allergenlösung enthaltenen Konservierungsstoff (Phenol) auszuschließen.

Nach erneuter Bestimmung von RAW und TGV verabreichten wir den Kindern vorsichtshalber zunächst 1/1o der Allergendosis, die in der Voruntersuchung (klinisch indizierte Allergenprovokation) eine mäßige asthmatische Sofortreaktion hervorgerufen hatte.Trat innerhalb von 2o Minuten keine Erhöhung des Atemwegswiederstand um 1oo% auf (Kriterium für eine positive Sofortreaktion nach den Richtlinien der Deutschen Gesellschaft für Allergie und Immunitätsforschung), so wurde die volle Dosis gegeben. Danach bestimmten wir im 5-Minutenabstand RAW und TGV, nach 2o Minuten im 1o Minutentakt. Sobald beide Parameter auf ihre Ausgangswerte zurückgekehrt waren, erfolgte die 2. Inhalation (zuerst die 1/1o verdünnte Vordosis, dann die Gesamtdosis). RAW und TGV wurden nach dem gleichen Zeitschema ermittelt. Nach Normalisierung der Lungenfunktion inhalierten die Kinder ein drittes Mal.

2.2.5. Einfluß von Acetylcystein auf die Allergen-tachyphylaxie

Nur Patienten, deren asthmatische Reaktion von einer Allergeninhalation zur anderen schwächer wurde (d.h. Patienten mit Allergentachyphylaxie), nahmen an der letzten Phase der Studie teil.

Sie inhalierten unmittelbar vor jeder Allergeninhalation, d.h. insgesamt 6x, 1 ml Mucolytikum "Lappe"^{R} wie unter 2.2.3. beschrieben.

Ansonsten war der Testablauf identisch mit dem zuvor (2.2.4.) beschriebenen Protokoll.

2.6. Statistik

Wenn nicht anders angegeben, wurden die Mittelwerte und die Standardabweichungen berechnet.

Die statistische Signifikanz von Unterschieden wurde mittels des Students t-Test für gepaarte Daten ermittelt.

Abbildungen 3 und 4 zeigen Mittelwerte und einfache Standardabweichungen.

Bei den unter 2.2. beschriebenen in vivo Untersuchungen wurden auf Grund der geringen Fallzahl keine statistischen Berechnungen durchgeführt.

3. Ergebnisse

3.1. Untersuchungen in vitro

3.1.1. Histaminfreisetzung aus peripheren Granulocyten- Einfluß von Acetylcystein

3.1.1.1. Spontaner Histaminrelease-Calcium Ionophor Anti-IgE induziert

Die basale Histaminfreisetzung lag durchschnittlich bei o.3% und damit deutlich unter 5%.

Nach Stimulation mit 16,7 IE anti-IgE lag der Wert bei 23,5% (+ 15,9).

Nach Stimulation mit Calcium Ionophor lag der Wert bei 45,4% (+ 24,1).

Ergebnisse:s.a.Tabelle I

ACETYLCYSTEIN	HISTAMINFREISETZUNG		
(Konzentration		nach Stimulation mit	
in %(w/v))	spontan	anti-IgE	Calcium Ionophor
0	o	23,5+15,9	45,5+24,1
o,ol6%	2,5+3,8	28,9+23,4	46,9+24,3
o,16 %	6,4+4,7	41,4+23,4*	5o,o+15,9
1,6 %	51,8+21,7	57,9+17,5**	57,9+21,2

Tab. *I: Histaminfreisetzung aus peripheren Granulocyten, basal und nach Stimulation;*

* $p<o,ol$, ** $p<o,ool$ bezogen auf den Ausgangswert ohne Acetylcystein (t-Test für gepaarte Daten, n=lo).

3.1.2. Einfluß von Acetylcystein auf die Histaminfreisetzung

Acetylcystein stimuliert sowohl den basalen als auch den anti-IgE-induzierten Histamine Release (Abb.3, Tab.I).

Hierbei zeigt sich eine deutliche Dosis-Wirkungs-Beziehung.

Die Steigerungsrate der Histaminfreisetzung ist bereits bei einer Acetylcysteinkonzentration von o,16% signifikant ($p<o.ol$).

Acetylcystein scheint auch bei Calcium Ionophor stimulierten Zellen eine Steigerung des Histaminrelease zu bewirken (Abb.4, Tab.I).
Sie ist jedoch nicht signifikant, da die so stimulierten Zellen bereits ohne Zusatz von Acetylcystein 45% Histamin freisetzen.

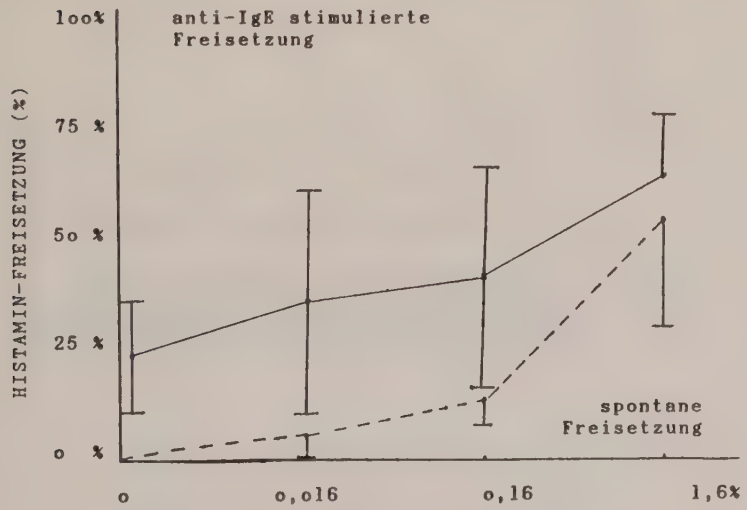


Abb.3: Steigerung der spontanen und der anti-IgE-stimulierten Histaminfreisetzung peripherer Granulocyten durch Acetylcystein.

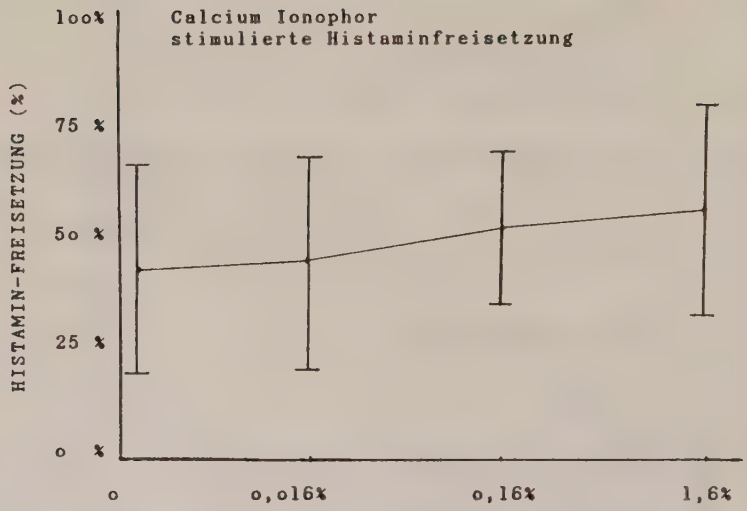


Abb.4: Tendentielle Zunahme der durch Calcium Ionophor hervorgerufenen Histaminfreisetzung aus peripheren Granulocyten bei steigenden Konzentrationen von Acetylcystein.

3.1.1.3. Einfluß von äquimolaren TCM-Puffer-Lösungen

Die oben beschriebenen Ergebnisse könnten durch eine erhöhte Osmolarität konzentrierter Acetylcysteinlösungen bedingt sein.
(Eine 1,6%ige Lösung hat bereits 371 mosmol, s.a. Tab.II. Für die Therapie wird eine 2o%ige Lösung empfohlen!).

Deshalb überprüften wir die basale und anti-IgE-stimulierte Histaminfreisetzung unter dem Einfluß von TCM-Puffer, der den verschiedenen Acetylcystein lösungen äquimolar war.

Keine der Lösungen führte zu einer signifikanten Steigerung des Histaminrelease (s.a.Tab.II).

Konzentrationen von Acetylcystein in TCM-Puffer, %	o	o,o16	o,16	1,6
Osmolarität, mosm	289	289	3o1	371
Spontane Histamin-freisetzung	1,5+2.o	1,5+2,o	1,6+2,1	2,o+ 1,8
Anti-IgE Stimulierte Histaminfreisetzung	23,1+11,4	23,1+11,4	14,8+1o	15,1+7,6

von TCM-Puffer der gleichen Osmolarität

Tab.II: Osmolarität der verschiedenen Acetylcysteinkonzentrationen, die wir in unserem Versuch benutzt hatten und Effekt von äquimolaren TCM-Puffer.

3.1.1.4. Einfluß der pH-Werte

Der pH-Wert von Mucolyticum "Lappe"® liegt bei 6 . Er verändert den pH-Wert des TCM-Puffers nicht (Tab.III), sodaß hier keine weiteren Experimente (analog zu 3.1.1.3.) durchgeführt wurden.

Konzentrationen von Acetylcystein in TCM-Puffer, %	o	o.ol6	o,16	1,6
pH-Wert	7,7	7,8	7,8	7,8

Tab.III: pH-Wert der verschiedenen Acetylcysteinkonzentrationen

3.1.2. Prostaglandin E-Biosynthese menschlicher Lungenfibroblasten

3.1.2.1. Basale und stimulierte Prostaglandin E-Synthese

Wir konnten in unserem Versuch die Beobachtung von Feinmark und Bailey (13) bestätigen, daß unter Stimulation mit Arachidonsäure (o.1 uMol) und Calcium Ionophor (1o uMol= 5,2 ug) die Prostaglandin E-Synthese von confluierenden Lungenfibroblasten anstieg.

Die basale Produktion der WI 38 Zellen lag bei
52 pg/ml/h PgE.

Nach Stimulation mit Calcium Ionophor stieg sie an auf
24o9 pg/ml/h PgE .

3.1.2.2. Prostaglandin E-Extraktion und Radio-Immuno-Assay

Nach der Extraktion fanden wir zwischen 55% und 7o% des vorhandenen Prostaglandin E wieder (Minimum-Maximum der recovery rate).

Die Varianz von RIA zu RIA aus den sechs Proben (2 gleichbehandelte Fibroblastenkulturen/jeweils 3 Proben daraus) war gering (s.a. Tab.IV).

Mucolytikum LappeR Menge in ml	o,o		o,1		o,3	
Probe	1	2	1	2	1	2
Mittelwert in pg/ml/h PgE	2117	27oo	85,7	82,6	16,9	2o.3
	2o47	2775	75,4	88,2	17,1	18,7
Einzelwerte in	21o3	23oo	82,1	9o,o	17,4	21,4
pg/ml/h PgE	22o9	3197	1oo,o	7o,o	16,2	2o,8

Tab.IV: Varianz der RIA-Ergebnisse

3.1.2.3. Einfluß von Acetylcystein auf die Prostaglandin E-Biosynthese

Die Zugabe von Acetylcystein ins Nährmedium bewirkt eine Dosis-abhängige Reduktion der Prostaglandin E-Biosynthese (Abb.6).

Schon bei einer Acetylcysteinkonzentration von o,2% reduziert sich die Prostaglandin E-Produktion um über die Hälfte.
Bei einer Acetylcysteinkonzentration von 6% ist kaum noch eine Prostaglandin E-Synthese nachzuweisen.

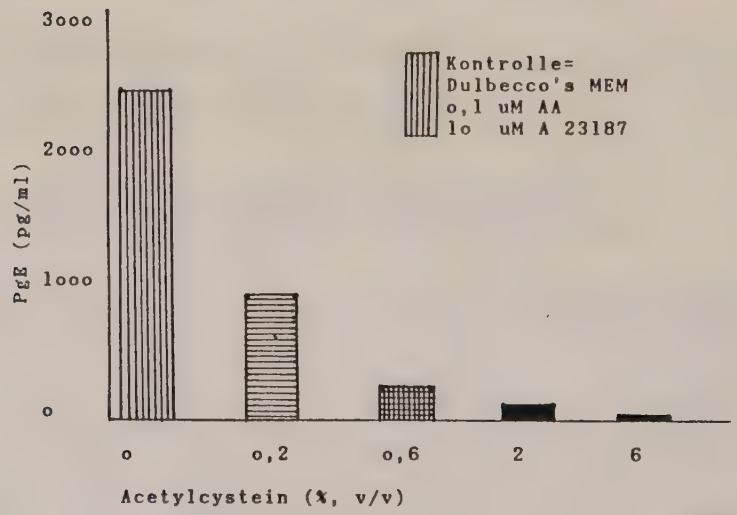


Abb.6: Reduktion der Prostaglandin E (PgE)-Biosynthese humaner Lungenfibroblasten nach Stimulation mit Arachidonsäure (AA)und Calcium Ionophor (A 23187) durch Zusatz von Acetylcystein.

3.2. in vivo-Untersuchungen

3.2.1. Auswahl der Patienten

Isolierte bronchiale Sofortreaktionen beobachteten wir an lo von 55 Patienten, die sich wegen Verdachts auf exogen allergisches Asthma bronchiale einer inhalativen Allergenprovokation unterzogen.

Alle anderen zeigten entweder eine deutliche verzögerte Bronchialreaktion oder starke Schwankungen im Bronchialtonus am Nachmittag, die entweder dem 24-Stunden-Rhythmus oder einer subklinischen verzögerten Reaktion zuzuschreiben waren.

6 von lo Patienten und deren Eltern waren nach sorgfältiger Aufklärung bereit,an der Studie teilzunehmen

3.2.2. Lungenfunktionsmessung

Zu Beginn einer jeden Untersuchung wurde die Meßmethode mehrmals kontrolliert.
Die Schwankungen von RAW und TGV waren bei den sechs Patienten, die an der Studie teilgenommen haben, gering.

3.2.3. Allergenapplikation/Inhalation von Acetylcystein

Die 1/lo Dosis bewirkte bei keinem der Patienten eine signifikante (d.h. loo %ige) Erhöhung des Atemwegswiderstandes. Die volle Dosis rief im Durchschnitt eine 98,6 %ige Erhöhung des Atemwegswiderstandes hervor(s.a. Tab.V, VI).

Die klinischen Beschwerden waren gering.

Nach spätestens 55 min. kehrte der Atemwegswiderstand auf Normalwerte zurück (Rückgangswert).

Die Inhalation von Acetylcystein alleine (d.h. ohne Allergen) bewirkte keine Änderungen der untersuchten Lungenfunktionsparameter.

Patient	Alter	Allergen	Dosis in Atemzügen (AZ)
1	16	Hausstaubmilbe	3 AZ 1:loo
2	16	Erlenpollen	lo AZ 1:looo
3	15	Hausstaubmilbe	lo AZ 1:lo
4	16	Birkenpollen	3 Az 1:looo
5	13	Hausstaubmilbe	4 AZ 1:loo
6	16	Graspollen	3 AZ 1:looo

Tab V: Charakterisierung der Patienten

Patient	Kontrolle	Zeit bis Max(min)	Maximum	Zeit bis RG (min)	Rückgangswert (=RG)
1	3,2	25	5,8	35	2,8
2	1,4	15	2,9	45	1,6
3	4,5	2o	9,5	5o	4,6
4	4.8	15	7,6	35	4,6
5	5,8	2o	11,1	5o	5,9
6	4,2	15	8,6	55	4,14

Tab. VI: Verlauf der bronchialen Obstruktion (gemessen als Atemwegswiderstand, RAW, hPa/l/sec) auf die erste Allergeninhalation

3.2.4. Allergentachyphylaxie

Die beiden ersten in Tabelle V aufgeführten Patienten zeigten deutlich eine Allergentachyphylaxie nach wiederholter Allergeninhalation:
Der Zahlenwert für den Atemwegswiderstand sank von einer Inhalation zur anderen (s.a. Abb.7,8 durchgezogene Linie).
Auch die klinische Symptomatik nahm ab:
Die Reaktion auf die erste Inhalation wurde von beiden als mäßige Atembeklemmung wahrgenommen, die beiden folgenden (2. und 3. Inhalation) waren nur mittels der Ganzkörperplethysmographie zu erfassen.

Bei Patient 3 (siehe Tab.VII) waren die RAW-Werte nach der 1. und 2. Inhalation identisch, erst nach der 3. Inhalation schwächte sich die Reaktion ab.

Bei Patientin 4 mußten wir abbrechen, weil sie eine verzögerte Reaktion entwickelte, die in der Vortestung nicht aufgetreten war.

Bei den letzten beiden Patienten stieg der Atemwegswiderstand nach der 1. Inhalation stark an. Nach der 2. Inhalation schwächte sich die Reaktion ab, nach der 3. Inhalation wurde sie wieder stärker,blieb aber unter dem Wert der 1.Reaktion.

Auf Grund der unter Punkt 2.2.1. genannten Kriterien mußten wir die Patienten 3 mit 6 von der weiteren Teilnahme an der Studie ausschließen.

Patient	Kontrolle	1. Test	2.Test	3.Test
1	3,2	5,8	5,5	4,4
2	1,4	2,9	2,6	2,o
3	4,5	9,5	9,5	8,o
4	4,8	7,6	9,2	verzö-gerte
5	5,8	11,1	8,9	lo,3
6	4,2	8,6	lo,6	5,2

Tab.VII: Meßwerte (RAW, hPa/l/sec) nach sequentieller Allergeninhalation

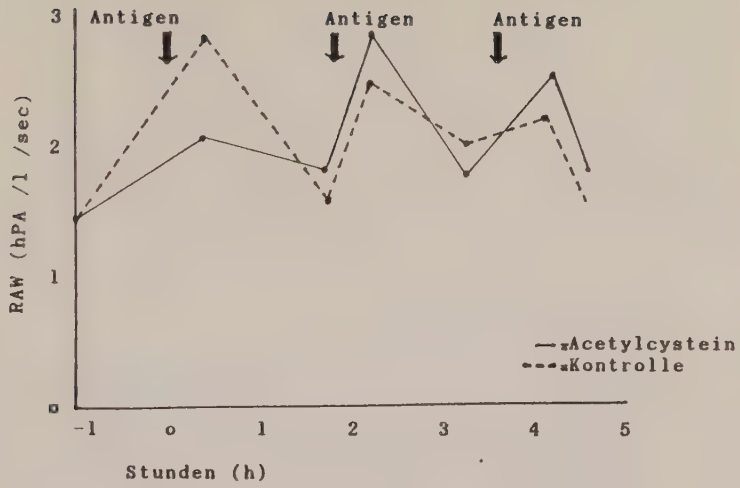


Abb.7: Einfluß von Acetylcystein auf die Allergen-tachyphylaxie (Patient 1)

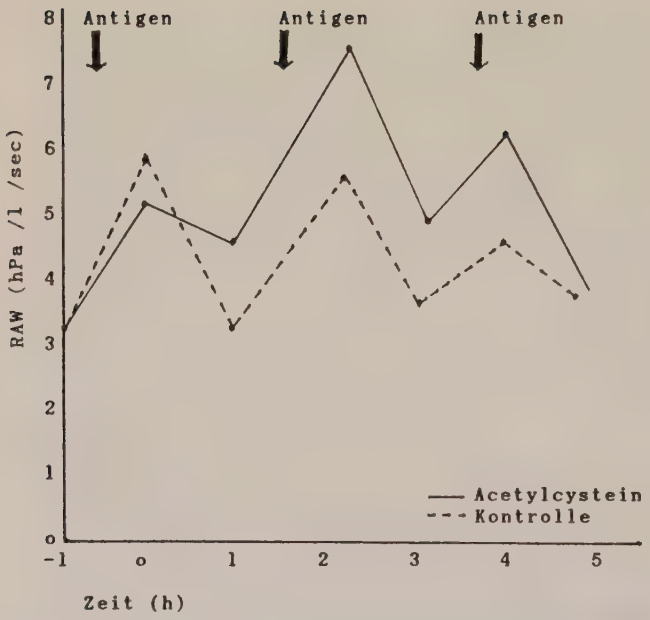


Abb.8: Einfluß von Acetylcystein auf die Allergen-tachyphylaxie (Patient 2)

3.2.5. Einfluß von Acetylcystein auf die asthmatische Reaktion nach sequentieller Allergeninhalation

Der Einfluß von Acetylcystein auf die Allergentachyphylaxie des Menschen konnte so nur an 2 Patienten überprüft werden (Abb.7 und 8). Sie unterzogen sich vier Wochen später dem gleichen Untersuchungsprotokoll, inhalierten jedoch vor jeder Allergenapplikation 2oo mg Acetylcystein.

Bei beiden war folgendes zu beobachten:

-Die erste Reaktion fiel etwas schwächer aus, dauerte aber länger;

-die zweite und die dritte Reaktion wurde verstärkt, d.h. die Allergentachyphylaxie wurde verhindert.

4. Diskussion

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, daß das Sekretolytikum Acetylcystein in vitro die Histaminfreisetzung aus peripheren Granulocyten steigert und die Prostaglandinsynthese in menschlichen Lungenfibroblasten vermindert, in vivo beim Menschen die Allergentachyphylaxie inhibiert und die asthmatische Reaktion verlängert

Der Begriff Tachyphylaxie stammt ursprünglich aus der Pharmakologie:

Er beschreibt eine zunehmende Wirkungsminderung eines Pharmakons bei mehrfacher Applikation in kurzen Zeitabständen.(14)

Eine zunehmende Wirkungsminderung eines Allergens nach mehrfacher Applikation in kurzen Zeitabständen bezeichnen wir als Allergentachyphylaxie.

Als Ursache für dieses Phänomen nahm man eine Entleerung der Mediatorenspeicher an. Dies sollte zu einem Refraktärstadium führen.

Mehrere vorausgegangene Studien haben gezeigt, daß dieser Zustand zumindest teilweise einem aktiven Schutzmechanismus zu verdanken ist.

Wenn man in vitro die glatte Muskulatur der Hundetrachea wiederholt mit gleichen Dosen von Histamin stimuliert, so zeigt sich, daß die Stärke der Muskelkontraktionen abnimmt und die Prostaglandin E-Menge im Organbad zunimmt (3, 4) .
Diese Histamintachyphylaxie kann man durch Zyklooxygenasehemmer, wie z.B. Acetylsalicylsäure oder Indometacin, vermindern. Fügt man dem Organbad Prostaglandin E zu, so kann diese Inhibition reversibel gemacht werden (3, 4).

In vivo konnte die Allergentachyphylaxie zuerst am Meerschweinchen gezeigt werden (9).

Mit Ovalbumin sensibilisierte Meerschweinchen inhalierten mehrmals eine Allergenlösung (o, 1o. 2o, 6o und 7o min).
Die ersten drei Inhalationen (o, 1o und 2o min) verursachten eine mittelstarke asthmatische Reaktion, die letzten beiden nur noch eine schwache.
Bei Vorbehandlung der Tiere mit Zyklooxygenasehemmern wurde die beobachtete Tachyphylaxie inhibiert.
Führte man diesen Tieren exogen Prostaglandin E in niedrigen , nicht bronchodilatatierenden Dosen zu, so trat die Tachyphylaxie wieder deutlich auf.

Dieses Erbebniss führte zu dem Schluß, daß die Allergentachyphylaxie zumindest teilweise der endogenen Prostaglandin E-Synthese zu verdanken ist.

Die Prostaglandinsynthese wird durch verschiedene Thiole, wie z.B. Cystein und Methional , in vitro moduliert (36).

Viele Sekretolytika sind Thiole.
Deshalb wurde der Einfluß von verschiedenen Thiolen (unter anderen auch das Sekretolytikum Acetylcystein) auf die Allegentachyphylaxie des Meerschweinchen untersucht

Zwei wichtige Nebenwirkungen bei der Überprüfung des Thiols Acetylcystein , einem in der Klinik häufig verwendeten Sekretolytikum konnten gezeigt werden:

a) Es inhibiert die Allergentachyphylaxie nach wiederholter Allergeninhalation

b) Es verlängert die einzelne asthmatische Reaktion

Diese Ergebnisse warfen die Frage auf, ob ähnliche Nebenwirkungen auch beim Menschen zu finden seien.

Vor möglichen klinischen Studien führten wir zwei in vitro-Untersuchungen durch.
Wir überprüften den Einfluß von Acetylcystein auf zwei menschliche Zellarten, die in der akuten allergischen Reaktion Mediatoren feisetzen :

a) Histaminfreisetzung aus peripheren Granulocyten

b) PgE-Bildung aus confluierenden Lungenfibroblasten

Prostaglandin E und F_2 nennt man sekundäre Mediatoren der Anaphylaxie (27, 29, 42), weil sie nur in äußerst geringer Konzentration von Mastzellen gebildet werden. Sie werden von Zellen gebildet, die erst sekundär in das allergische Geschehen miteinbezogen werden, wie Fibroblasten und glatte Muskulatur (1, 3, 7, 13).

Beide Mediatoren entstehen auf verschiedene Weise aus den cyclischen Endoperoxiden Prostaglandin G_2 und Prostaglandin H_2:

-Prostaglandin E entsteht durch eine enzymatische Umwandlung, vermittelt durch das Enzym Prostaglandin E Isomerase (32, 36), wobei interessanterweise das Thiol Gluthation (in reduzierter Form:GSH) als Koenzym wirkt.

-Prostaglandin $F_{2\alpha}$ entsteht durch nicht enzymatische Reduktion. Der nichtenzymatische Zerfall (Reduktion) kann durch reduzierende Stoffe, darunter zählen auch die Thiole (23, 36), verstärkt werden.

Beide Prostaglandine haben entgegengesetzte Wirkung auf die Bronchien (15, 16, 21).
Prostaglandin E und Verwandte sind Bronchodilatatoren und vermindern die Histaminfreisetzung (6, 41, 46).
Prostaglandin F_2 ist ein starker Bronchokonstriktor und fördert die Histaminfreisetzung.Patienten, die an Asthma leiden, reagieren bis zu 6ooo-fach stärker auf Prostaglandin F_2 als Gesunde (25). Bei Asthmatikern ist der Prostaglandin E-Spiegel höher als bei Normalpersonen (34). Auch von Meerschweinchenlungen wird Prostaglandin E_2 nach Allergenbelastung vermehrt freigesetzt, ebenso von isolierter Hundetrachealmuskulatur nach wiederholter Histaminstimulation.
Okazaki u.a. folgerten daraus, daß dadurch die Intensität der einzelnen asthmatischen Reaktionenen verringert würde (Wichtiger Hinweis auf Allergentachyphylaxie).

Lungenfibroblasten sind wesentliche Produzenten der Prostaglandine und Thromboxane bei asthmatischen Reaktionen (13). In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, daß die Prostaglandin E-Biosynthese dieser Zellen unter Vorbehandlung mit Acetylcystein wesentlich verringert wurde. Dies war schon bei Acetylcysteinkonzentrationen von o.2% der Fall.
Nötig wäre es auch , den Einfluß von Acetylcystein auf andere wichtige Mediatoren ,wie PgF_2 und PAF (=Plättchen-aktivierender Faktor) , zu überprüfen. Das war im Rahmen dieser Arbeit jedoch nicht möglich.

Als zweites konnten wir zeigen, daß sowohl die spontane, als auch die anti-IgE-stimulierte Histaminfreisetzung von menschlichen peripheren Granulocyten signifikant gesteigert wurde.
Dieser Effekt konnte nicht der Osmolarität der Acetylcysteinlösungen zugeschrieben werden, weil Pufferlösungen der gleichen Osmolarität nichts bewirkten.
Während der Durchführung unserer Studie berichteten Barret e.a. (5) ähnliche Ergebnisse.Sie beobachteten ebenfalls eine vermehrte Histaminfreisetzung aus peripheren Granulocyten, die mit Acetylcystein behandelt waren. Sie schrieben diesen Effekt dem sauren pH der Lösung zu (bis pH 2.6).
Wir benutzten Acetylcysteinlösungen, die für klinische Zwecke hergestellt und empfohlen werden.
Der pH der Lösungen bewegte sich zwischen 6,o und 7,o. Der pH der gepufferten Testlösungen blieb stabil (Tab.II).

Alle bisher diskutierten Befunde, d.h.

-die Verlängerung asthmatischer Reaktionen von Meerschweinchen

-die Behinderung der Allergentachyphylaxie beim Meerschweinchen in vivo

-die Behinderung der Prostaglandin E-Biosynthese menschlicher Lungenfibroblasten

-die Steigerung der Histaminfreisetzung menschlicher Granulocyten in vitro

lassen mögliche unerwünschte Nebenwirkungen von Acetylcystein auch beim Asthma bronchiale des Menschen vermuten.
In der Tat existieren Berichte über Nebenwirkungen , wie Anaphylaxie oder Asthma, nach i.v. Gaben sehr hoher Dosen von Acetylcystein wegen Vergiftungen mit Paracetamol (2o).

Die Verdachtsmomente aus Tierexperimenten und in vitro Studien reichen jedoch noch nicht aus, um generell die Anwendung von Acetylcystein bei Asthmakranken in Frage zu stellen. Handelt es sich doch um ein zugelassenes und weltweit verwandtes Sekretolytikum, das gerade Asthmapatienten als sicher angepriesen wird, mit dem Zusatz, daß es bei Asthmapatienten nur in Kombination mit b-Sympathikomimetika zu verabreichen sei! (Rote Liste).

Von besonderem Interesse wären also Untersuchungen an Asthmapatienten. Wir konnten vorläufige Ergebnisse ermitteln.
Bei der Versuchsplanung bestanden jedoch gewisse Schwierigkeiten :

Die blosse Übertragung des beim Meerschweinchen durchgeführten Protokolls (wiederholte Allergeninhalationen in kurzen Zeitabständen) auf den Menschen war nicht ohne weiteres möglich, da beim Asthma bronchiale des Menschen zweierlei Reaktionsformen zu beobachten sind:
-die allergische Sofortreaktion und die
-sogenannte verzögerte Reaktion
(Siehe auch Abb.1).
Letztere dauert zwei Stunden bis zwei Tage und ist von einer bronchialen Übererregbarkeit gefolgt. Sie wird ausgelöst durch Entzündungsmediatoren, die während der Sofortreaktion gebildet bzw. freigesetzt werden (12). Es ist zwar anzunehmen, daß auch bei Patienten mit verzögerter Reaktion Steuerungsmechanismen am Werk sind, die zur Allergentachyphylaxie führen, sie können aber kaum nachgewiesen werden, da sie durch die verzögerte Reaktion überlagert werden.
Zudem verbietet die während verzögerter Reaktionen auftretende bronchiale Überempfindlichkeit (25) eine mehrfache Allergenapplikation.
Deshalb untersuchten wir die Wirkung von Acetylcystein zunächst bei Patienten, an denen wir nach einer klinisch notwendigen Allergenprovokation isolierte Sofortreaktionen beobachtet hatten. Vorsichtshalber wurden auch Patienten mit stärkeren Schwankungen im Bronchialtonus während der Nachmittagsstunden ausgeschlossen.

Die Patienten mit isolierter Sofortreaktion inhalierten dreimal hintereinander die gleiche Allergenmenge.

Bei zwei Patienten fielen bereits die Zweitreaktionen deutlich schwächer aus, als die Ersten, bei einem trat Allergentachyphylaxie erst nach der dritten Inhalation auf.
In keinem Fall führten die wiederholten Allergeninhalationen zu einer Steigerung der asthmatischen Reaktion.
Bei zwei Patienten waren nach der dritten Inhalation stärkere Reaktionen zu beobachten, als nach der zweiten , jedoch weniger stark als nach der Ersten.
Bei einem Mädchen trat nach der zweiten Inhalation eine verzögerte Reaktion auf.
Worauf die unterschiedlichen Reaktionsweisen zurückzuführen sind, ist unklar. Es ist anzunehmen, daß nicht bei jeder Reaktion die gleichen Mediatoren in gleicher Zusammensetzung freigesetzt werden (In einem Fall, Pat. 4, führten die Mediatoren der zweiten Reaktion offensichtlich zu einer verzögerten Reaktion, was die erste nicht bewirkte)

Festzuhalten aber ist, daß uns erstmals beim Menschen der Nachweis einer Allergentachyphylaxie gelang.

Bei den beiden Patienten mit eindeutiger Allergentachyphylaxie wurde Acetylcystein in seiner Wirkung auf das Asthma bronchiale überprüft.
In beiden Fällen beobachteten wir
-eine leichte Abschwächung der Reaktion auf die erste Allergeninhalation,
-eine Verlängerung fast aller Reaktionen und
-eine deutliche Behinderung der Allergentachyphylaxie.

Die zwei Fallbeobachtungen lassen weitergehende Schlußfolgerungen nicht zu. Häufigkeit und klinische Bedeutung ähnlicher Nebenwirkungen müssen noch an einer größeren Anzahl von Patienten überprüft werden.

Dennoch möchten wir aus unseren Untersuchungsergebnissen bereits heute die Empfehlung ableiten, den Einsatz von Acetylcystein bei Asthmapatienten kritisch zu überdenken.

5. Zusammenfassung

Der Begriff "Allergentachyphylaxie" beschreibt eine abnehmende bronchiale Reaktion auf das Allergen nach sequentieller Allergenapplikation. Beim Meerschweinchenasthma hängt dieser aktive Schutzmechanismus von der Prostaglandin E-Biosynthese ab und kann durch verschiedene Thiole behindert werden.
Wie in einer vorangegangenen Studie gezeigt werden konnte, hat das sekretolytisch wirkende Thiol "Acetylcystein" (AC) beim Meerschweinchen folgende Nebenwirkungen:
-es behindert die Allergentachyphylaxie,
-es verlängert jede einzelne asthmatische Reaktion.

Eine mögliche klinische Relevanz überprüften wir mit folgenden Untersuchungen:

1.Confluierende menschliche Lungenfibroblasten wurden mit Arachidonsäure und Calcium Ionophor stimuliert und mit ansteigenden Mengen von Acetylcystein inkubiert. Die Prostaglandin E-Synthese nahm mit steigenden AC-Konzentrationen ab.
Sie fiel von 24o8 pg/ml (Kontrolle) auf 84,2 pg/ml (o,6%AC) und 18,6 pg/ml (6%AC) ab.

2.Wir überprüften den anti-IgE-induzierten Histamine Release aus peripheren Granulocyten in Anwesenheit verschiedener AC-Konzentrationen.
AC (o,o16, o,16, 1,6%) steigerte sowohl die basale, als auch die anti-IgE-induzierte Histaminfreisetzung signifikant.

3. 6 Patienten mit einer isolierten Sofortreaktion unterzogen sich einer dreimaligen sequentiellen Allergeninhalation. Bei zwei Patienten nahm die Stärke der bronchialen Reaktion von Inhalation zu Inhalation ab. Diese "Allergentachyphylaxie" wurde durch vorherige Inhalation von AC in beiden Fällen verhindert.

Aus diesen Untersuchungen leiten wir die Empfehlung ab, den Einsatz von Acetylcystein bei Patienten, die an Asthma bronchiale leiden, kritisch zu überdenken.

Literaturverzeichnis

1.Adkinson, N., Jr.; Newball, H.; Findlay, S.; Adams, G.;Lichtenstein, L.:Origin of PGF_2-production following anaphylactic challenge of human lung. Monogr.Allergy, vol. 14,pp. 122-125 (Karger, Basel 1979).

2.Adkinson, N., Jr.; Newball, H.; Findlay, S.; Adams, G.; Lichtenstein, L.: Anaphylactic release of prostaglandins from human lung in vitro. Am. Rev. resp. Dis.121: 911-92o (198o)

3.Anderson, W.; Krzanowski, J.; Polson, J.; Szentivany, A.; Increased synthesis of prostaglandin-like material during histamine tachyphylaxis in canine tracheal smooth muscle. Biochem. Pharmac. 28: 2223-2226 (1979).

4.Anderson, W.; Krzanowski, J.; Polson, J.; Szentivany, A: Characteristics of histamine tachyphylaxis in canine tracheal smooth muscle. Arch. Pharmacol. 3o8: 117-125 (1979).

5.Barret, K. E.; Minor, J.R.; Metcalfe, D.D: Histamine secretion induced by N-acetyl cysteine. Agents actions 16:144-146 (1985).

6.Birnbaum, J.; Birkhead,N.; Oronsky, A.:Bronchodilator activity of a PGE_2 analogues in animals and in man. Prostaglandins 21:457-469 (1981).

7.Brink,C.; Ducan, P.; Douglas, J.: Histamine tachyphylaxis in canine isolated airways: role fo endogeneous prostaglandins. J. Pharmacol.34: 199-2o9 (1982)

8.Cartier,A.; Thomson, N.L.; Frith, P.A.; Roberts,R.; Tech, M.; Hargreave, F.E.: Allergen induced increase in bronchial responsiveness to histamine: relationship to the late asthmatic response and change in airway caliber. J.Allergy clin. Immunol. 70:17o (1982).

9.Dorsch, W.;Frey, L.: Allergen tachyphylaxis of guinea pigs in vivo: a prostaglandin E mediated phenomenon? Arch. Pharmacol.317:351-356 (1981)

lo.Dorsch, w.; Waldherr, U.; Rosmanith, J.: Continous recording of intrapulmonary "Compressed Air" as a sensitive noninvasive method of measuring bronchial obstruction in guinea pigs. Plügers Arch. 391:239-241 (1981).

11.Dorsch, W.; Frey, L.; Müller, W.: In vivo allergen tachyphylaxis in guinea pig lung is mediated by endogeneous prostaglandin E biosynthesis. Arch. Pharmacol. 325: 275-282 (1984)

12.Dorsch ,W.: Die verzögerte Phase der allergischen Sofortreaktion. Allergologie 1o: 419-434 (1986)

13.Feinmark, S.J.; Bailey, J.M.: Lipid metabolism in cultured cells: activator of endogeneous thromboxane A_2 synthesis in cultured lung fibroblasts. J.biol. Chem. 257:2816-2821 (1982).

14.Ford, W.; Henschler, D.; Rummel, W.:Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie (1984)

15.Gardiner, P.: The effects of some natural prostaglandins on isolated human circular bronchial muscle. Prostaglandins 1o:6o4-616 (1975).

16.Gardiner, P.;Collier,H.: Specific receptors for prostaglandins in airway. Prostaglandins 19:819-841 (198o).

17.Gonsior, E.: Richtlinien für die Durchführung von bronchialen Provokationen mit Allergenen und pharmako-dynamischen Substanzen bei obstruktiven Atemwegserkrankungen. Allergologie 7:238-242 (1984).

18.Grodjinska,L.; Panayenko,B.; Gryglenski,R.J.: Generation of prostaglandine E-like material by the guinea pig trachea contracted by histamine. J. Pharmacol.27:88-91 (1975).

19.Hamberg, M; Samuelsson, B.: Detection und isolation of endoperoxide intermediate in prostaglandin biosynthesis. Proc. natn. Acad. Sci.USA 7o:899-9o3 (1973).

2o.Ho, S.W.-C.; Beilin, L.J.: Asthma associated with N-acetylcysteine infusion and paracetamol poisoning:report of two cases. Br.med.J.287:876-877 (1983).

21.Kadowitz, P.; Joines, P.; Hyman, A.: Physiological and pharmacological roles of prostaglandins. Prostaglandins II:285-3o5 (1975).

22.Kaliner, M.; Shelhamer, J.H.; Borson, B.;Nadel, J.;Patow, O.; Marom, Z.:Human Respiratory Mucus. Am. Rev. Resp.Dis.134:612-621 (1986)

23.Lee, R.; Lands, W.:Cofactor in the biosynthesis of prostaglandins F_1 and F2 '. BIochem. biophys. Acta 26o:2o3-211 (1971).

24.Lichtenstein, L.;Gillespie, E.: INhibition of histamine release by histamine controlled by H_2 receptors. Nature 244:287-288 (1973).

25.Mathe, A.; Hedqvist, P.; Holmgron, A.; Svanborg, N.: Bronchial hyperreactivity to prostaglandin F_2 ' and histamine in patients with asthma. Br.med. J.i:193-196 (1973).

26.Mathe, A.; Hedqvist, P.: Effects of prostaglandins F_2 ' and E2 on airway conductance in healthy subjects and asthmatic patients. Am.Rev.resp. Dis.111: 313-32o (1975).

27.Mathe, A.: Studies on actions of prostaglandins in the lung. Acta physiol.scand.,suppl.441,pp.1-55 (1976).

28.Morley, J.;Sanjar,S.; Page, C.,P.: The platelet in asthma. Lancet 17: 1142-1143 (1984)

29.Newball, H.; Adkinson, N.; Adams, G.; Findlay, S.; Lichtenstein, L.: Mechanism of anaphylactis release of prostaglandins (PGs) from human lung. J.Allergy clin. Immunol. 61: 148 (1978).

3o.Newball, H.; Keiser, H.; Lenfant, C.: Prostaglandin F_2 ' functions as a local hormone on human airways. Resp. Physiol. 41:183-197 (1979).

31.Nugteren, D.; Hazelhof, E.: Isolation and properties of intermediates in prostaglandin biosynthesis. Biochim. biophys. Acta 326:448-461 (1973).

32.Ogino, N.; Miyamoto,T.; Yamamoto, S.;Hayaishi,O.: Prostaglandin endoperoxide E isomerase from bovine vesicular gland microsomes, a glutathione-requiring enzyme,J.biol. Chem.252: 89o-892 (1977).

33.Ohki, S.; Ogino,N.; Yamamoto, S.; Hayaishi, O.; Yamamoto, H.; Miyake, H.; Hayaishi, M.: Inhibition of prostaglandin endoperoxide synthetase by thiol analogues of prostaglandin. Proc. nant. Acad. Sci. USA 74: 144-148 (1977).

34. Okazaki, T.; Reismann, R.; Arbesmann, C.; Meddleton, E.: Plasma PG concentrations in allergic bronchial asthma. Int. Archs. Allergy appl. Immun. 57:279-281 (1978).

35.Powerlowicz, P.; Dorsch, W.: Inhibition of allergen tachyphylaxis in guinea pigs by inhalation of acetylcysteine.J. Allergy clin. Immunol.73: 129 (1984).

36.Raz, A.; Kenig, Wakshal, R.; Schwartzmann, N.: Effect of organic compounds on the chemical and enzymatic transformation of prostaglandin endoperoxide H_2. Biochim. biophys. Acta 448:329-332 (1977).

37.Ring, J.: Mechanismen der akuten allergischen Reaktion. Münch. med. Wschr.123: 167o-1674 (1981).

38.Ring, J.; O'Connor, R.: In vitro histamine and serotonin release, studies in atopic dermatitis. Int Archs Allergy appl. Immun. 58: 322-33o (1979).

39.Samuelsson, B.:The leukotrienes:an introduction,in: Leukotrienes and other lipoxygenase products, ed. by B. Samuelsson and R. Paoletti, Raven Press, New York, pp.1-17 (1982)

4o.Siraganian, R.P.: Refinements in the automated fluorometric histamine analysis system. J.immunol. Methods 7: 283-29o (1975).

41.Smith, A.; Cuthbert, M.; Dunlop, L.: Effects of inhaled prostaglandins E1, E_2 and F_2 ' om the airway resistance of healthy and asthmatic man. Clin. Sci. mol. Med.48:421-43o (1975).

42.Strandberg;K.; Mathe, A.; Yen, S.: Release of histamine and formation of prostaglandins in human lung tissue and rat mast cells. Int. Archs. Allergy appl. Immun. 53: 52o-529 (1977).

43.van der Helm, D.; Ring, J.; Dorsch, W.:Influence of prostaglandin E_2 and indomethacin on histamine releasability of peripheral leucocytes from atopic and normal individuals. Arch. Derm. Res. 275: 218 (1983)

44.Vargaftig, B.; Dao,Hai,H.: Interference of some thiol derivatives with the pharmacological effects of arachidonic acid and slow reacting substance C and with the release of rabbit aorta contracting substance. Eur. J. Pharmacol.18: 43-55 (1972).

45.Walton, N.G.; Mann, T.A.N.; Shaw, K.M.: Anaphylactoid reaction to N-acetylcysteine. Lancet ii:1298 (1979).

7. Danksagung

Herrn Professor Spieß danke ich herzlichst für die Arbeitsmöglichkeiten in seiner Klinik.
Herrn Privatdozenten Dr. med. W. Dorsch und Herrn Professor Dr. med. Dr. phil. J. Ring gebührt mein besonderer Dank für die erfrischende und fachlich hervorragende Betreuung im Rahmen der Arbeit.
Herzlichsten Dank auch an Herrn Dr. med. habil. Dr. rer. nat. B. Adelmann-Grill für die engagierte fachliche und menschlich besonders zugewandte Betreuung.
Auch bei Frau S. Walther möchte ich mich bedanken, die mich in jeder Hinsicht tatkräftig und hilfreich unterstützte.
Zuletzt sei den zahlreichen Ungenannten Dank gesagt, die mir im Rahmen dieser Arbeit beigestanden sind und mir Hilfe gewährt haben.

8. Lebenslauf

21.8.1959	in München geboren
	Eltern: Erich und Emma Auch
	eine Tochter: Sophia Anna, 2 Jahre
1965-1969	Besuch der Volksschule an der Lerchenauer -strasse, München-Feldmoching
1969-1978	Besuch des Willi-Graf-Gymnasiums
1978	Abitur und Beginn des Medizinstudiums an der LMU-München
1980	Ärztliche Vorprüfung
1981	1. Teil der ärztlichen Prüfung
1982 SS	Aufenthalt in Lucolena/Florenz
1984	2. Teil der ärztlichen Prüfung
13.1o.84	Geburt meiner Tochter Sophia Anna
1986	3. Teil der ärztlichen Prüfung
	Approbation als Arzt